Centre universitaire de Mila

Institut des sciences de la nature et de la vie

Département de biotechnologie

Module: Génétique moléculaire

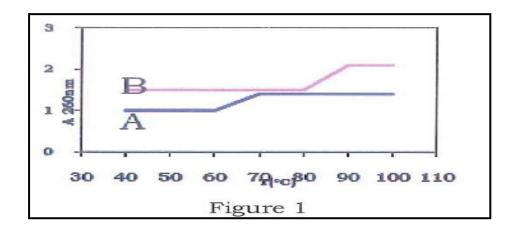
Niveau: Master 1

Spécialité : Biotechnologie végétale

TD N° 3 : Dosage des acides nucléiques

Exercice 1:

Deux ADN doubles-brins A et B d'origine différente sont constitués de 647 pb. L'ADN A est résistant à l'action des exonucléases tandis que l'ADN B est hydrolysé par ces enzymes.



- 1) Quel est le poids moléculaire exprimé en Dalton de ces ADN ?
- 2) Donner en um la longueur de ces ADN. On chauffe des solutions des ADN A et B et on mesure leur absorbance à 260 nm en fonction de l'élévation de température. Les résultats sont présentés sur la figure n°1.
- 3) Pour quelle raison l'absorbance est-elle mesurée à 260 nm?
- 4) Que signifient les différences enregistrées pour les ADN A et B à 40°C?
- 5) Que traduit l'augmentation de l'absorbance lorsque la température s'élève ?
- 6) En quoi les 2 ADN différent-ils ? L'ADN C, linéaire mesure 0,3 um et a un poids moléculaire de 291000 Da.
- 7) Quelle est la structure de cet ADN ? Une solution Ci de l'ADN C a une absorbance de 2,8 à 25°C en mélangeant 2,5 ml de cette solution à 7,5 ml d'eau, on obtient la solution C2.
- 8) Compléter le graphique 1 en portant l'absorbance de la solution C2 en fonction de la température.

Exercice 2:

1- Le dosage d'une solution d'ADN par spectroscopie à 260 nm indique une absorbance (DO) de 0,78.

Quelle est la quantité d'ADN contenue dans $15\mu l$ de cette solution? Rappel : ADN : 1DO 50 ng/ μl ADN dénaturé : 1DO 37 ng/ μl

2- La concentration d'une solution d'ADN est déterminée par spectroscopie UV.

La valeur de DO mesurée est de 0,456. Parmi les propositions suivantes, répondre par vrai ou faux en justifiant brièvement les réponses.

- a- Les groupements phosphates de l'ADN sont responsables de l'absorbance dans l'UV ?
- b- La concentration en ADN de cette solution est de 109.65 mg/l.
- c- Après dénaturation de l'ADN par la chaleur, la DO de cette même solution mesurée à 260nm serait supérieure à 0.456.